



UNIVERSIDAD NACIONAL

**"PEDRO RUIZ GALLO"**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**

---

OBTENCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DE LA CÁSCARA  
DE BERENJENA *Solanum melongena* Y SU EMPLEO EN UN  
PRODUCTO LÁCTICO: YOGURT

# **TESIS**

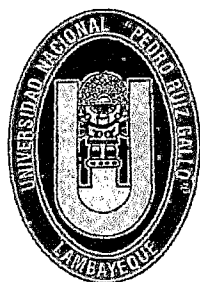
**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. REYNOSO YARLAQUÉ MARÍA DEL CARMEN.**

**LAMBAYEQUE - PERÚ**

**2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS**  
**ALIMENTARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**TESIS**

UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
OFICINA CENTRAL DE BIBLIOTECA
PROCESOS TÉCNICOS
Nº DE INGRESO: _____
COD. DE CLASIFICACIÓN: _____

**OBTENCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DE LA CÁSCARA DE**  
**BERENJENA *Solanum melongena* Y SU EMPLEO EN UN**  
**PRODUCTO LÁCTICO: YOGURT**

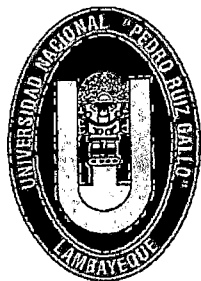
**Para Optar El Título Profesional De**  
**INGENIERO QUÍMICO.**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. REYNOSO YARLAQUÉ MARÍA DEL CARMEN.**

**Lambayeque – Perú**

**2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS**  
**ALIMENTARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**TESIS**

**OBTENCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DE LA CÁSCARA DE**  
**BERENJENA *Solanum melongena* Y SU EMPLEO EN UN**  
**PRODUCTO LÁCTICO: YOGURT**

**Para Optar El Título Profesional De**  
**INGENIERO QUÍMICO.**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. REYNOSO YARLAQUÉ MARÍA DEL CARMEN.**

**Aprobado por:**

**Dra. Ing. Cabrera Salazar Tarcila Amelia**

  
\_\_\_\_\_  
**JURADO PRESIDENTE**

**Dr. Ing. Díaz Eyzaguirre Adolfo Segundo**

  
\_\_\_\_\_  
**JURADO SECRETARIO**

**Ing. Tirado Vásquez Julio Humberto**

  
\_\_\_\_\_  
**JURADO VOCAL**

**Dra. Ing. Romero Guzmán Blanca Margarita**

  
\_\_\_\_\_  
**ASESOR**

**Lambayeque – Perú**  
**2014**

## **DEDICATORIA**

A mi madre: MARÍA ISABEL, por su invaluable sacrificio, apoyo y comprensión en cada instante de mi vida.

A mi madrina: ISABEL, por su ejemplo de esfuerzo y por darme fuerzas en todo momento para alcanzar mis metas.

A mi novio: DANNY MANUEL, por siempre estar a mi lado en el cumplimiento de esta meta que tenemos juntos.

**MARÍA DEL CARMEN**

## **AGRADECIMIENTO**

A mi DIOS TODOPODEROSO, quién me guió por el buen camino, darme fuerza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi Asesora:  
Dra. Ing. Blanca Margarita Romero  
Guzmán, por su apoyo durante el desarrollo de mi Tesis.

Al Dr. Segundo Guillermo Ruiz Reyes, quien mediante sus valiosos estudios en productos naturales, me guió constantemente durante el proceso experimental de mi Tesis.

A los técnicos de Laboratorio: Sr. Floriano Saucedo y el Sr. Eugenio Minga y a todas aquellas personas que contribuyeron en la orientación y culminación de mi Tesis.

**MARÍA DEL CARMEN**

ÍNDICE

Pág.

RESUMEN ..... 01

ABSTRACT ..... 02

I. INTRODUCCIÓN .....03

II. FUNDAMENTOS TEORICOS .....04

III. MATERIALES Y MÉTODOS .....14

IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 31

CONCLUSIONES .....45

RECOMENDACIONES ..... 46

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....47

ANEXOS .....51

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por finalidad obtener un colorante a partir de la cáscara de Berenjena *Solanum melongena* y aplicarlo en un producto láctico como el yogurt.

Para la obtención del colorante, se utilizó 50 berenjenas, a las cuales se les separó las cáscaras, luego se procedió a las etapas de secado, molienda con la que se obtuvo 188.2 gramos, tamizado utilizando tamices Retsch N° 30 y 18, logrando 110 gramos de muestra, maceración utilizando 25 gramos de la muestra con 100 ml de solvente (agua – alcohol etílico 70° GL) con ácido cítrico al 1% y finalmente la extracción que después de una evaporación se obtuvo 14.5 ml del extracto semi – líquido.

Muestras del extracto fueron analizadas por técnicas de cromatografía de capa fina, espectrofotometría de UV y reconocimiento, verificando la presencia de flavonoides y de manera específica las antocianinas.

Muestras del extracto en diferentes proporciones fueron adicionadas al yogurt, el cual fue evaluado por los consumidores.

## ABSTRACT

The present research had for purpose obtains a dye from the shell Eggplant *Solanum melongena* and to apply a dairy product such as yogurt.

For obtaining the colorant 50 was used eggplants, to which the shells are separated, then the steps of drying, crushing which 188.2 grams was obtained using sieves Retsch sieve No. 30 and 18, obtaining 110 grams of sample maceration to which 20 grams of the sample was used with 100 ml of solvent (water - ethyl alcohol 70 ° GL) with 1% citric acid and finally extraction after evaporation 14.5 ml of extract was obtained semi - liquid.

Extract samples were analyzed by techniques of thin layer chromatography, UV spectrophotometry and recognition, verifying the presence of flavonoids and anthocyanins specifically.

Samples of the extract at different ratios were added to the yogurt, which was evaluated by the consumer.



## INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria donde la demanda de colorante es alta predomina el de origen sintético. Sin embargo las antocianinas son pigmentos vegetales de gran capacidad para reemplazar los colorantes sintéticos.

Al respecto Quintero (2004), realiza estudios sobre el Efecto de la copigmentación sobre el color y estabilidad del pigmento en un sistema modelo (bebida), usando antocianina de rábano *Raphanus sativus* L. concluyendo que el ácido vainílico es el copigmento más estable en la extracción de colorante.

Ramírez (2006) realiza una investigación sobre la obtención de un colorante de mora de castilla *Rubus glaucus Benth* a partir de la extracción metanólica la cual fue empleada con fines alimentarios.

Se formula el problema científico ¿A partir de la cáscara de berenjena *Solanum melongena* es posible obtener colorante y emplearlo en un producto láctico: yogurt?

Los objetivos son:

- Dar un valor agregado a la cascara de la berenjena *Solanum melongena* considerado como residuo orgánico.
- Obtener colorante a partir de la cáscara de berenjena *Solanum melongena*.
- Aplicar el colorante obtenido en un producto láctico.

La presente Investigación ayudará al consumo de colorantes naturales a partir de residuos orgánicos vegetales, teniendo como soporte las técnicas de análisis y otros conocimientos adquiridos en la Carrera de Ingeniería Química.

## II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 2.1 BERENJENA *Solanum melongena*

La Berenjena *Solanum melongena* es una hortaliza de 5 hasta 30 cm de longitud de forma cilíndrica, oblonga o alargada en la mayoría de los casos, con una piel lisa, brillante y de colores diversos según la variedad, la más común es la de color morado o negro al madurar, pero existen blanca, púrpura, negra, amarilla y roja o de colores mezclados, sobre todo blanco, negro, morado y verde. La pulpa es consistente, de textura esponjosa, de color blanco, tiene cierto sabor amargo, presenta pequeñas semillas de color amarillo. Se encuentra todo el año al ser cultivado en época de bajas temperatura en invernadero (Wikipedia, 2013).

La berenjena está compuesta por fitonutrientes muy importantes, con propiedades antioxidantes, entre los que se tiene el ácido cafeico, clorogénico y la nasunina; también es importante resaltar el contenido de antocianinas.

La nasunina es un fitonutriente que se encuentra en la cáscara de la berenjena, la cual es antioxidante al proteger las membranas celulares de los daños de los efectos de los radicales libres (Hurtado, 2009).

Además contiene una serie de vitaminas como la B1, es rica en folatos, magnesio, cobre, alto contenido en fibra entre otros (Taiz *et al.*, 2006).

## **2.2 COLORANTES ALIMENTARIOS**

Son aditivos que se utilizan para dar color y embellecer los alimentos o sus superficies. Su objetivo es simplemente el de proporcionar un aspecto agradable a la vista, que llame la atención, que abra el apetito, estimulando así la venta.

Las industrias alimentarias que utilizan los colorantes son, principalmente: la confitería, la pastelería, la industria de las bebidas, la industria lechera, la salazón, embutidos entre otros.

### **COLORANTES NATURALES**

Son sustancias que pueden transferir color a otros cuerpos, provenientes de un cuerpo orgánico. Se pueden clasificar por sus características físicas, composición química, tipo de teñido.

#### **A. Características físicas:**

- **Colorantes Directos:** son los grupos de colorante de antocianina, carotenoide, derivado de chalcona. Los colorantes son obtenidos de una solución acuosa. Los colorantes naturales, generalmente, son poco estables, esto es debido a la variabilidad de la propia naturaleza.

Ej. La flor de cártamo, cúrcuma, azafrán, remolacha.

- **Pigmentos (Pigments):** Son partículas formadas por multitud de moléculas simples y por tanto de mucho mayor tamaño, las cuales son insolvente y para que pueda adherirse a la superficie del sustrato, se tiene que mezclar con un adhesivo; absorben y dispersan la luz. Ej. La clorofila, xantofila.

**B. Características químicas:**

**a. Colorantes flavonoides:** Son cuatro principales

**CUADRO 1.** Colorantes flavonoides

Grupo	Color	Procedencia
Flavonol	Amarillo	Bidens
Flavonona	Crema amarillo	Perejil
Chalcona	Rojo y amarillo	Cártamo
Antocianina	Rojo y violeta	Berenjena, mora

**Fuente:** Lock de Ugaz(1997)

**b. Colorante carotenoides:** son dos principales

**CUADRO 2.** Colorantes carotenoides

Grupo	Color	Procedencia
Caroteno	Anaranjado	Zanahoria
Xantofila	amarillo	Achiote

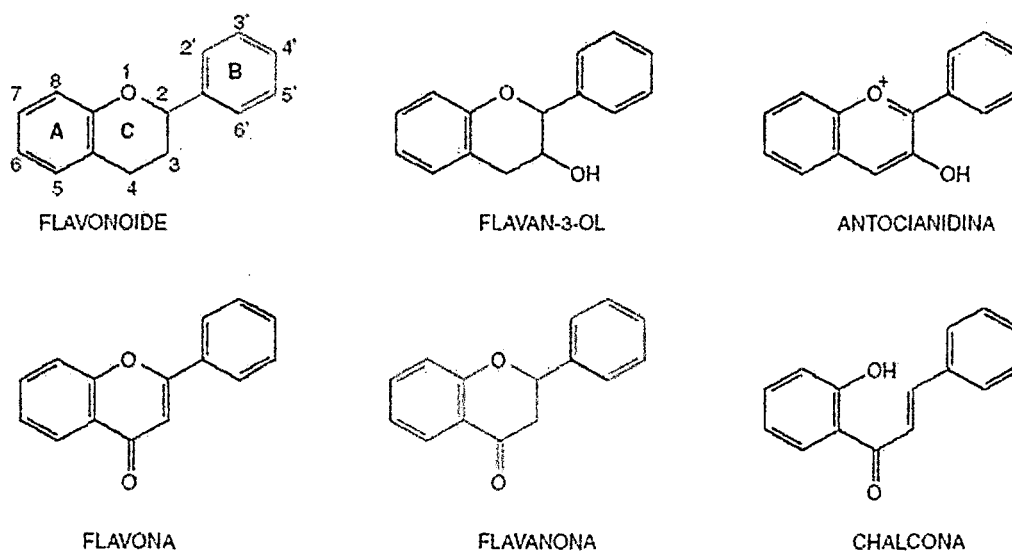
**Fuente:** Lock de Ugaz (1997)

**2.3 FLAVONOIDES**

Son una clase de metabolitos secundarios más numerosos y ampliamente distribuidos en las plantas.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante.

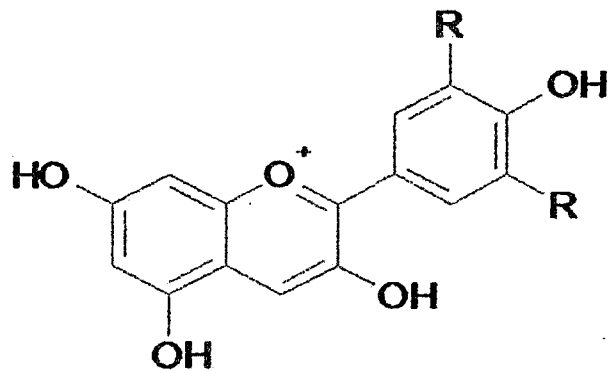
En la figura 1 se pueden observar la estructura de algunos flavonoides de mayor uso.



**Figura 1.** Estructuras químicas de flavonoides

### 2.3.1 ANTOCIANINAS

Las antocianinas (del griego *anthos* flor y *Kyanos* azul) son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano y se definen como flavonoides fenólicos. Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 1993). Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico (Figura 2).

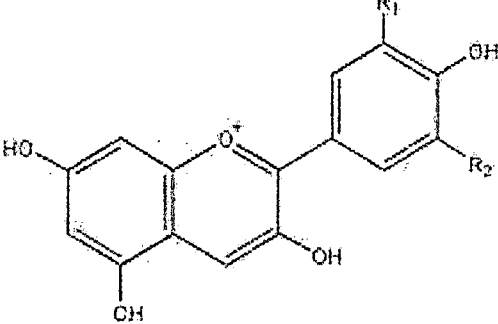


**Figura 2.** Estructura de la antocianina

Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las flores, frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos. El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo (Badui, 2006). Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de las frutas como manzanas arándanos, frambuesas, cerezas, uvas ciruelas, flores como jamaica, rosas y verduras como coliflores moradas, cebolla morada. La función que cumplen es la de atraer seres vivos (insectos y pájaros) para propósitos de polinización y dispersión de semillas.

De todas las antocianinas existentes solo seis son de interés en los alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, malvidina y petunidina (Harbone and Grayer, 1988). La combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas (Aguilera *et al*, 2011).

**CUADRO 3. Clases de antocianinas**

 <div data-bbox="458 766 874 949"> <p> <math>R_1 = H; R_2 = H:</math> Pelargonidin  <math>R_1 = OH; R_2 = H:</math> Cyanidin  <math>R_1 = OH; R_2 = OH:</math> Delphinidin  <math>R_1 = OCH_3; R_2 = OH:</math> Petunidin  <math>R_1 = OCH_3; R_2 = OCH_3:</math> Malvidin         </p> </div>	$\lambda_{max} (nm)$
Pelargonidina	(naranja)
Cianidina	(naranja-rojo)
Delfinidina	(azul-rojo)
Peonidina	(naranja-rojo)
Petunidina	(azul-rojo)
Malvidina	(azul-rojo)

**Fuente: Tesis Digitales Universidad de las Américas Puebla**

### 2.3.1.1 FACTORES QUE ALTERAN LA ESTABILIDAD DE LA ANTOCIANINA

- **pH**

Este es uno de los factores más importantes. Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo. Cuando

esta es sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4.5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras (Hutchings, 1999).

Conociendo esto, las antocianinas tienen su máxima expresión de color a pH ácidos (pH1), y su forma incolora se produce a pH neutros o alcalinos, debido a esta característica se utilizan a las antocianinas a pH ácido o ligeramente neutro en la industria alimenticia.

- **Dióxido de sulfuro**

Enzimas que destruyen a las antocianinas puede ser inactivadas utilizando dióxido de sulfuro en bajas concentraciones (30 ppm). Pueden inhibir la degradación enzimática de antocianinas en cerezas agrias rojas sin blanquear (Goodman y Markakis, 1965). Bajas concentraciones también son utilizadas para estabilizar las antocianinas y altas concentraciones de dióxido de sulfuro en la región de las 10,000 ppm se utiliza para un blanqueo irreversible, que se utiliza en las cerezas rojas para la producción de maraschino, escarchadas o cerezas glaze.

- **Oxígeno y ácido ascórbico**

La presencia de oxígeno y ácido ascórbico contribuye a la degradación de antocianinas. La pérdida de antocianinas ante la presencia de oxígeno depende del pH y se relaciona a la concentración presente de la pseudo-base. La retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento, puede ser por vacío o por flujo de nitrógeno (Kallio et al., 1986). La presencia de oxígeno acelera la destrucción de pelargonina-3-



glucósido en ambas soluciones de buffer de pH 2-4 y el jugo de fresa a 45°C (Lukton *et al.* 1956).

- **Temperatura**

La antocianina es destruida por el calor durante el procesamiento y almacenamiento (Markakis, 1974). Un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura.

Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersión, a temperaturas mayores a 100°C. ocurre una degradación del color, mientras que a las temperaturas por debajo de los 90°C. resulta una degradación mínima (Simpson *et al.*, 1976).

- **Otros**

Complejos de metal aparecen cuando las antocianinas reaccionan con aluminio, cobre y hierro. La adición de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  mejora la estabilidad de antocianinas en la 'crowberry' (Kallio *et al.*, 1986).

### **2.3.1.2 LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES**

La creciente preocupación por la toxicidad de los colorantes sintéticos usados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos ha sido investigada por Hallagan, 1991, y Lauro, 1991, quienes reportaron que los colorantes rojo No. 2 y No. 40 se han prohibido en Austria, Japón, Noruega y Suecia, pero el rojo No. 40 aún se encuentra en escrutinio en Estados Unidos. Al mismo tiempo, dichos hallazgos se relacionan con modificaciones en la hiperactividad de niños de edad escolar lo cual puede considerarse un mal neuronal agudo

(Breakey *et al.*, 2002; McCann *et al.*, 2007). Tales antecedentes son indicios suficientes para disminuir la demanda de colorantes artificiales a favor del consumo generalizado de colorantes naturales como las antocianinas (Huck y Wilkes, 1996; Birks, 1999; Ersus y Yurdagel, 2007; Olaya *et al.*, 2008; Wallace y Giusti, 2008). Las políticas regulatorias en cuanto al uso de colorantes derivados de las antocianinas varían de país a país (Ottersäater, 1999). Estados Unidos es el país más restrictivo en cuanto al uso de las antocianinas como colorantes naturales. Allí, cuatro de los 26 colorantes que están exentos de certificación y aprobados para el uso en alimentos se derivan de la cáscara de la uva, del extracto de la uva, del jugo de vegetales y del jugo de frutas. Las fuentes más comunes de jugo de vegetales son el repollo morado, los rábanos y diferentes variedades de bayas (Wrolstad, 2004). En contraste, en la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas son reconocidos como naturales (Ottersäater, 1999).

## **2.4 COLORANTES NATURALES AUTORIZADOS PARA USO ALIMENTARIO**

Según la norma oficial mexicana NOM-119-SSA1-1994, son los siguientes: aceite de zanahoria, achiote (extracto de semillas), b-apocarotenal, betabel (remolacha) deshidratado, b-caroteno, cantaxantina, color caramelo, clorofila, cochinilla, cúrcuma (polvo y oleoresina), extracto de color de uva, extracto de cáscara de uva, harina de semilla de algodón, jugo de frutas, chile en polvo, oleoresina de chile, riboflavina y xantofilas.

**Certificación internacional:**

El uso de colorantes alimentarios en la Comunidad Europea (EC) es controlado por la directiva EC 2645/62 y en los Estados Unidos por la enmienda de aditivos y colorantes de 1960 (ley 86-618), publicada por la Food Drug Administration (FDA) (Abeysekere, 1990).

La FDA creo tres categorías para clasificar a los colorantes:

- I. Colorantes FD&C: certificados para uso en alimentos, drogas y cosméticos.
- II. Colorantes D&C: Utilizados en drogas y cosméticos o usados en contacto directo con las mucosas.
- III. Colorantes Ext. D&C: Colorantes que por su toxicidad oral no son certificados para uso en productos planeados para ingestión, pero que son considerados seguros para su uso en productos aplicados externamente.

**2.5 ACEPTABILIDAD GENERAL CON PRUEBAS DE ANÁLISIS SENSORIAL**

Las pruebas efectuadas están orientadas al consumidor, son usadas para conocer el grado de aceptabilidad de diferentes cualidades de un producto: aceptabilidad del sabor, color, etc.; así como para medir el grado de satisfacción del consumidor en respuesta a sus expectativas o requerimientos.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Lugar de Ejecución:**

Las pruebas de análisis se realizaron en los Laboratorios de Química Orgánica y Fisicoquímica de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo y en el Laboratorio de Farmacomórfica – Farmacognosia “Jorge Canales Ganoza” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

#### **3.2 Materia Prima:**

La muestra utilizada en el estudio estuvo constituida por 50 ejemplares de berenjenas *Solanum melongena*, procedentes de la Provincia de Virú - La Libertad, a las cuales se les extrajo las cáscara.

#### **3.3 Materiales :**

- Pelador de verduras
- Papel craft
- Cuchara
- Placas Petri
- Mortero con pistilo
- Molino de mano
- Set de Tamices Retsch ® 6mbH
- Probeta
- Alcoholímetro

- Papel film
- Vasos de precipitación
- Matraces
- Embudo
- Pipetas
- Varillas de vidrio
- Frascos esterilizados
- Cronómetro
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Matraz Erlenmeyer
- Matraz Kitasato
- Fiolas
- Crisoles

### **3.4 Reactivos**

- Solventes (Agua, etanol 96°)
- Ácido Cítrico
- **Para las pruebas cromatográficas:**
  - Solventes: acetato de etilo, ácido fórmico, n-butanol, ácido acético glacial, ácido clorhídrico, reactivo AEDBE éster del ácido 2-amino etil difenil bórico, agua.
- **Para el reconocimiento de antocianinas:**
  - Hidróxido de Sodio diluido, ácido clorhídrico.

- **Para la determinación de la concentración de las antocianinas totales:**
  - Cloruro de potasio, acetato de sodio.

### **3.5 Equipos**

- **Extracción de colorante:**
  - Estufa Memmert
  - Balanza granataria de triple brazo OHAUS 700/800 series
  - Balanza analítica OHAUS GA 200
  - Bomba de vacío Marathon Electric
  - Lámpara de luz UV
  - Agitador magnético
  - Refrigeradora Coldex RN30

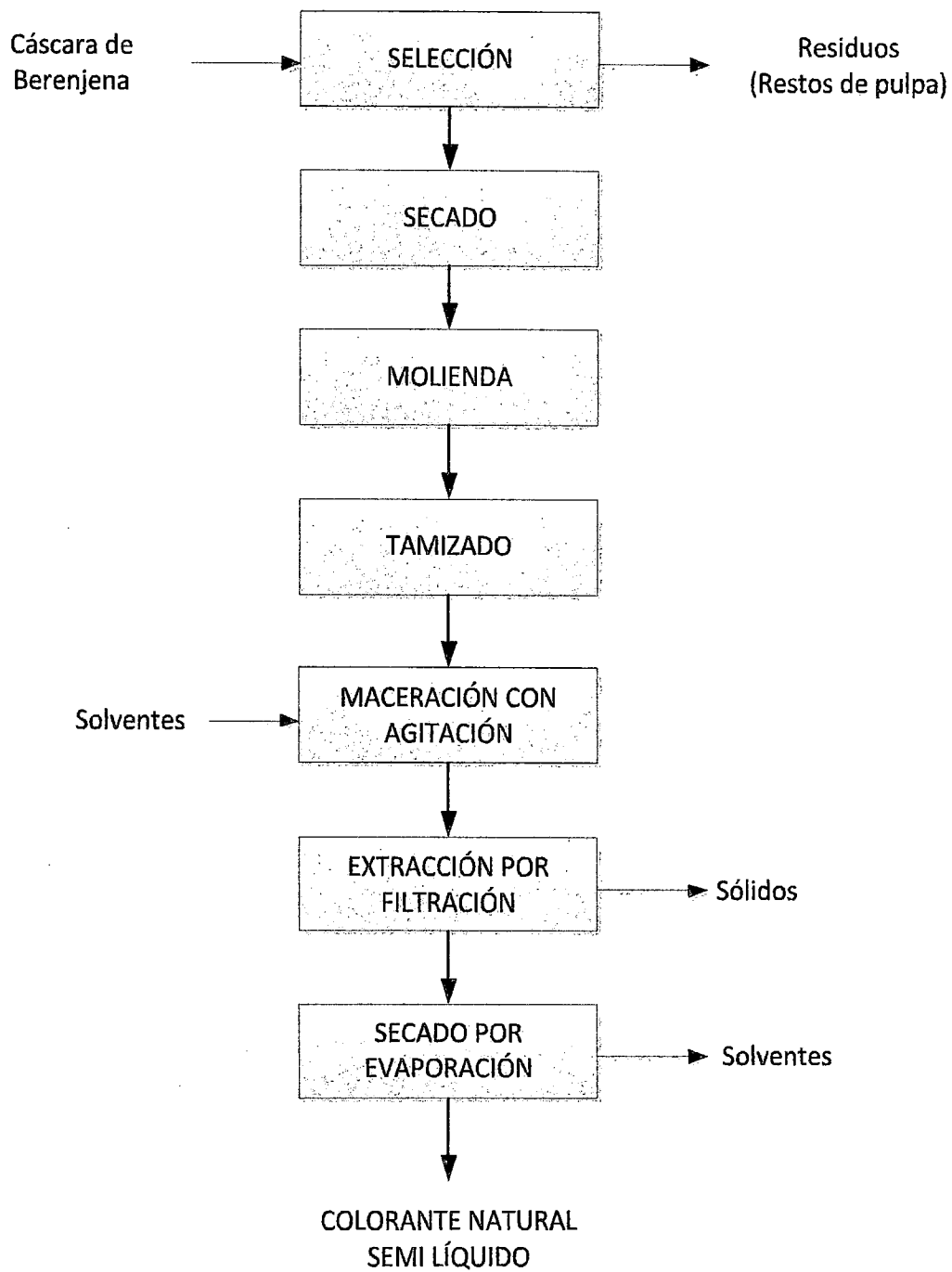
### **3.6 Métodos y Técnicas De Análisis**

**Método:** Consistió en 4 etapas:

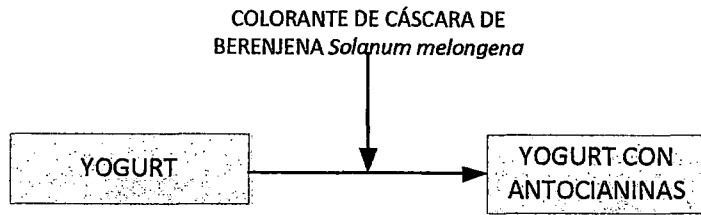
- Obtención de colorante
- Cromatografía de Capa fina
- Reconocimiento de antocianinas
- Determinación de antocianinas totales

### 3.6.1 Obtención de Colorante

#### DIAGRAMA DE PROCESO DE OBTENCIÓN DE COLORANTE



## DIAGRAMA DE ADICIÓN DEL COLORANTE AL YOGURT



### ESTUDIO DESCRIPTIVO:

**HIPÓTESIS:** Se obtiene colorante de la cáscara de berenjena *Solanum melongena* que es empleado en un producto láctico: yogurt.

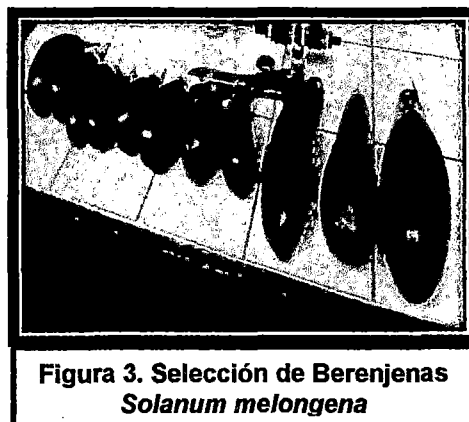
### VARIABLES:

- A. **Variable Independiente:** Extracción del colorante (antocianinas).
- B. **Variable Dependiente:** Aceptabilidad del producto láctico: yogurt.

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

- **Selección de las Cáscaras.**

Se seleccionaron 50 berenjenas (Figura 3), a las cuales se les separó la cáscara con un pelador de verduras, de modo que quedaron finas tiras que fueron cortadas en pequeñas partes y posteriormente secadas al ambiente por un período de 24 horas.



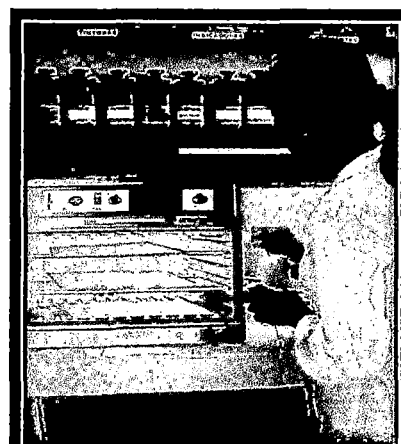


- **Secado**

Las cáscaras seleccionadas se secaron previamente al ambiente (Figura 4) y se colocaron en bolsas de papel Kraft con orificios y llevadas a la estufa (Figura 5), donde permanecieron 72 horas a 40°C, y posteriormente por un período de 12 horas más a 60°C donde se llevó a cabo un mejor secado.



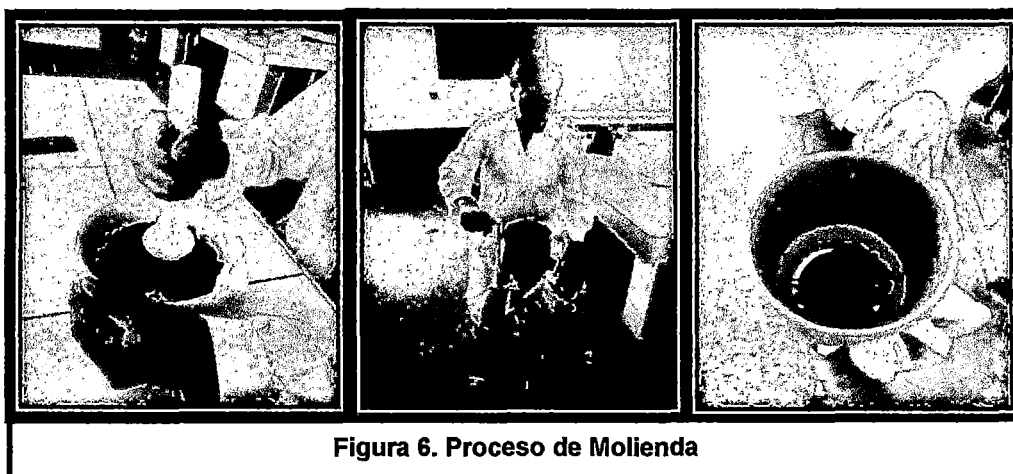
**Figura 4. Secado al ambiente**



**Figura 5. Cáscaras en sus sobres dentro de la estufa**

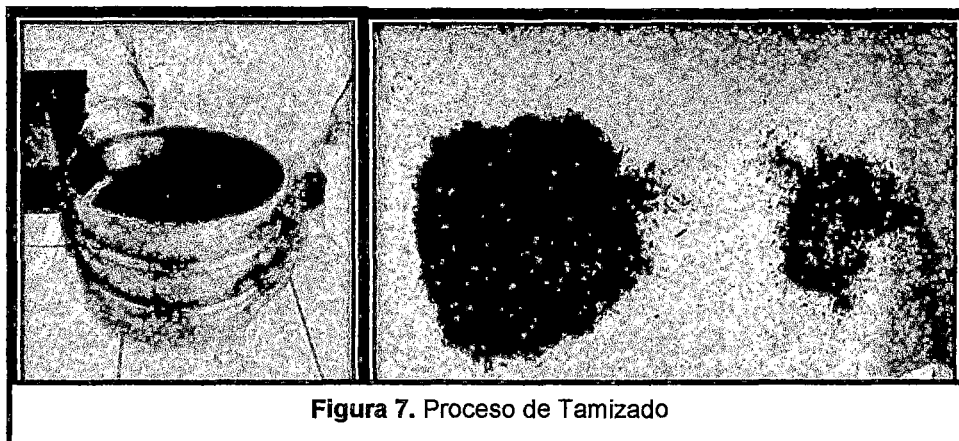
- **Molienda.**

La muestra seca fue triturada previamente en un mortero con pistilo y luego llevada a un molino de mano para una molienda más efectiva, obteniendo un peso de 188.3 gramos (Figura 6).



**Figura 6. Proceso de Molienda**

Se estandarizó la muestra en dos tamaños adecuados de 600um y 1 mm, para lo cual se utilizó un juego de tamices Retsch N°30 y 18 respectivamente, con lo que se obtuvo 110 gramos de muestra (Figura 7).



- **Maceración.**

Parte de la muestra molida y tamizada (25 gramos) se colocó en un balón de vidrio (previamente esterilizado) al cual se le añadió 100 ml de solvente (mezcla de agua – etanol) de 70°GL. Además se le adicionó para una mejor extracción ácido cítrico al 1 % (Figura 8).

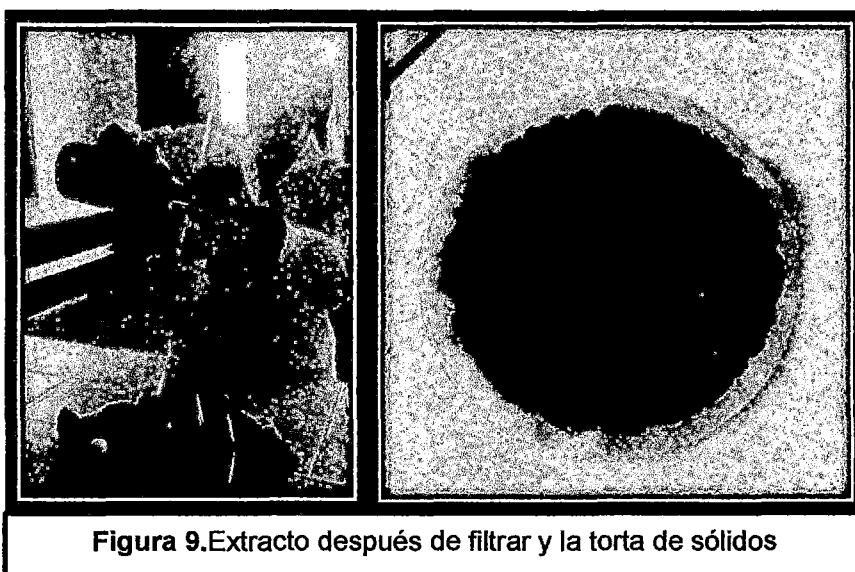


- **Extracción.**

Se realizaron filtraciones preliminares, hasta eliminar el color por lo que se llevó a cabo una segunda y una tercera extracción. Resultando de esto muestras A1, A2 y A3.

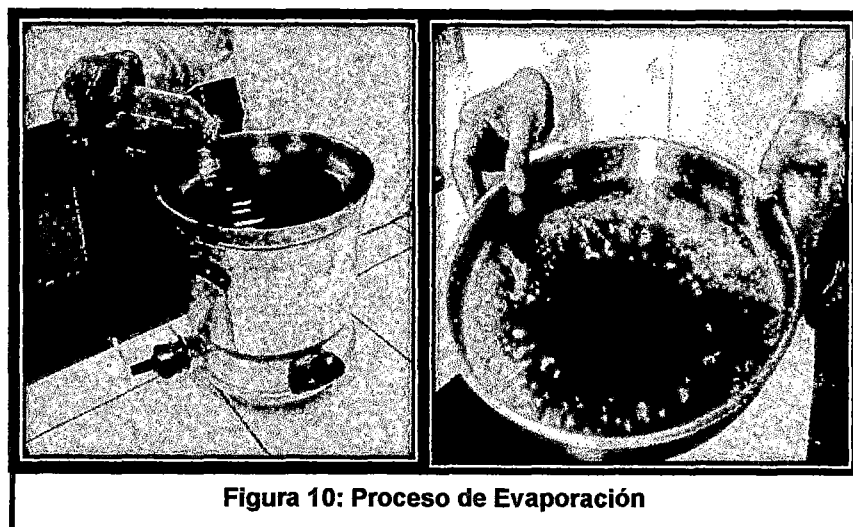
Posteriormente se realizó la extracción por filtración al vacío, para asegurar un mayor rendimiento, por medio de un equipo que presenta las siguientes características: marca Marathon Electric y distribuido por H.W. Kessel S.A., modelo 5KH33DN16JX, HP: 1/6. (Figura 9)

El tiempo que duró el filtrado fue de 20 minutos.



- **Secado por Evaporación.**

El extracto fue llevado a calentamiento a través de baño María para evitar contacto directo, durante 10 minutos logrando 14.5 ml de extracto semi – líquido (Figura 10).



### 3.6.2. Técnicas de Análisis

#### 3.6.2.1 Cromatografía de Capa Fina

La cromatografía en capa fina (CCF), TLC (Thin layer chromatography) es una técnica cromatográfica. En cromatografía en capa fina se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente en un eluyente apolar; La placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida con algún agente cementante. El eluyente debe ser un compuesto líquido apolar, generalmente orgánico. Para realizar la CCF, se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida a aproximadamente 1 cm (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar).

El proceso de siembra se realiza tocando con la punta del capilar (micropipeta, etc) sobre la placa preparada. Dejando una distancia al borde inferior de un centímetro aproximadamente. El punto de aplicación de la muestra se denomina toque.

Una vez colocado el toque se deja secar para evaporar el disolvente, de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar.

➤ **Materiales y Reactivos:**

- Fiolas
- Cromatoplasacas de Silicagel
- Cubetas de vidrio para cromatografía
- Tubos capilares
- Mechero
- N-butanol
- Ácido acético glacial
- Patrones: Rutina y Quercetina para identificar la presencia de flavonoides.

➤ **Parte Experimental:**

- En ocho fiolas se preparó la fase móvil que se dividió en dos etapas, las cuales se variaron con las proporciones de los componentes y posteriormente se agitó.

### **Etapla I:**

➤ **Sistema 1:**

Acetato de etilo 100%

Ácido fórmico 11%

Ácido acético 11%

Agua 26%

➤ **Sistema 2:**

Cloroformo 95%

Metanol 5%

➤ **Sistema 3:**

Cloroformo

➤ **Sistema 4:**

BAW (n-butanol, ácido acético glacial, agua 4:1:5)

### **Etapla II:**

➤ **Sistema 1:**

Cloroformo 50%

Metanol 50%

➤ **Sistema 2:**

BAW 4:1:5

➤ **Sistema 3:**

Cloroformo 60%

Ácido acético glacial 15%

Metanol 25%

➤ **Sistema 4:**

Agua	82%
HCl	3%
Ácido acético glacial	15%

Parte de la muestra del colorante (2 ml) se llevó a secar en baño maría, en una cápsula de porcelana (evaporación). Posteriormente se diluyó con metanol y se filtró utilizando algodón.

A continuación se dividió la cromatoplaqueta de silicagel 60 GF254 (20 \* 20 cm), en ocho partes de 5 \* 10 cm, estableciendo la línea de inicio en 1.5 cm y la línea límite en 9 cm. Posteriormente se procedió a sembrar las muestras y los patrones (Anexo 1) en las cromatoplaquetas con ayuda de tubos capilares. Esto se realizó con el fin de determinar de manera preliminar el contenido de flavonoides en el extracto, ya que las antocianinas corresponden a este grupo. Cada 15 minutos se realizó un nuevo sembrado por ocho veces (Figura 11).

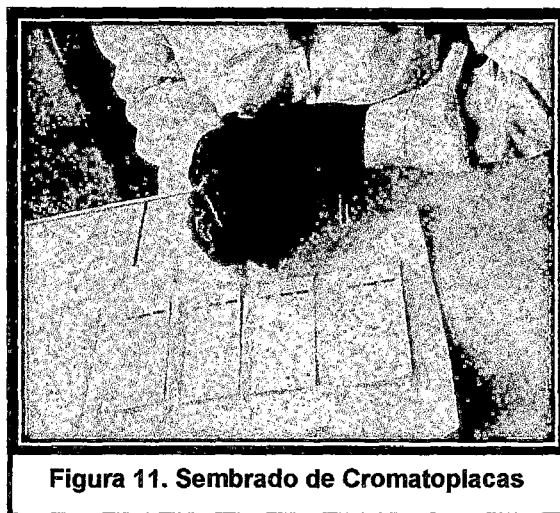
Posteriormente se introdujeron las placas a cada uno de los vasos de vidrio etiquetados y cerrados herméticamente con papel film, que contenían los diferentes sistemas, para que corra hasta alcanzar la línea límite.

Se retiró las placas pasado el tiempo y se dejaron secar al ambiente por doce horas.

Una vez secas las placas cromatográficas se le colocó el revelador de productos naturales: Reactivo de AEDBE (éster del ácido 2-amino etil difenil bórico) y luego a la lámpara UV 254 nm donde se pudo observar

claramente la presencia de flavonoides al comparar con el recorrido de los patrones (Figura 12). Siendo claramente los sistemas BAW los mejores para este caso, con los cuales se trabajó para hallar el  $R_f$  (Factor de Retención) que se determinó de la siguiente forma:

$R_f = \text{distancia recorrida por el sustrato} / \text{distancia recorrida por el disolvente}$





### **3.6.2.2 Reconocimiento de Antocianinas**

Las antocianinas son muy sensibles a las variaciones de pH. En general, adquieren un color rojo en medio ácido y cambian a color azul oscuro cuando el pH se hace básico, pasando por el color violeta. En los extractos vegetales pueden encontrar varios tipos de antocianinas juntas, las cuales confieren a cada extracto particular diferentes cambios de color frente al pH.

#### **➤ Materiales y Reactivos**

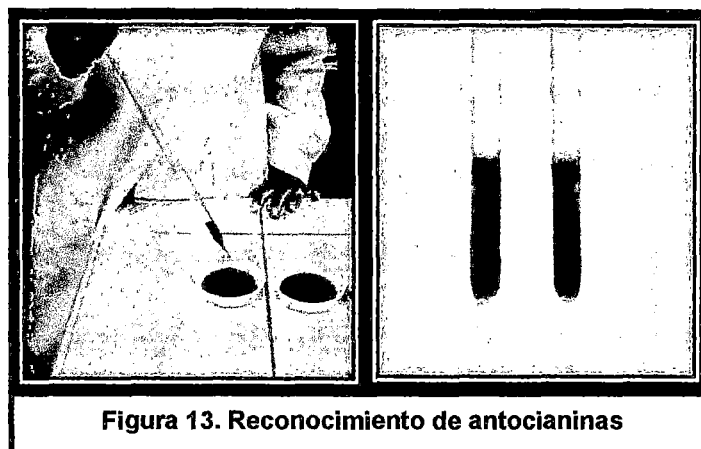
- Matraz
- Pipeta
- Cápsula de porcelana
- Hidróxido de sodio NaOH diluido
- Ácido Clorhídrico HCl diluido

#### **➤ Parte Experimental**

En una cápsula se colocó 2 ml de filtrado. Se añadió 1 ml de NaOH diluido. Se pudo observar que el color formado fue azul.

En otra cápsula se colocó otros 2 ml de filtrado. Se añadió unas 6 gotas de un ácido mineral diluido en este caso fue HCl, observando que la solución se tornó de color rojizo.

Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH, por ello claramente se demostró la presencia de antocianinas en la muestra (Figura 13).



**Figura 13. Reconocimiento de antocianinas**

### 3.6.2.3 Determinación de la concentración de Antocianinas Totales

Para la obtención de la concentración de la antocianina se utilizó el método del pH diferencial (Wrolstad 2001). La forma oxonium de la antocianina predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5. El pH diferencial es un método basado en esta reacción y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total incluso en presencia de otros compuestos interferentes. La metodología fue descrita por Guisti (2001).

La concentración de antocianinas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Concentración (mg/L)} = (A * PM * FD * 1000) / (\epsilon * 1)$$

Donde:

$$A = (A_{\lambda_{\text{vismax}}} - A_{\lambda 700\text{nm}})_{\text{pH1}} - (A_{\lambda_{\text{vismax}}} - A_{\lambda 700\text{nm}})_{\text{pH4.5}}$$

Siendo  $A_{\lambda_{vismax}}$  absorbancia máxima de la antocianina,  $A_{\lambda 700nm}$  lectura de la absorbancia en 700 nm,  $\epsilon$  absorptividad molar de la antocianina mayoritaria, PM peso molecular de la antocianina mayoritaria y FD factor de dilución.

#### ➤ **Materiales y Reactivos**

- Espectrofotómetro de UV – Visible
- Pipeta
- Agua destilada
- Buffer pH 1
- Buffer pH 4.5

### **3.7 Métodos Sensoriales**

El análisis sensorial puede ser definido como el método de encuesta calificando, caracterizando y/o midiendo, las propiedades sensoriales del producto final (yogurt).

Se trabajó con 50 personas; a los cuales se les presentó 5 muestras del producto final (yogurt) que contenían 0, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 gramos de colorante respectivamente en 10 ml de yogurt.

Una vez degustadas las muestras, los jueces emitieron su calificación de acuerdo a un formato dado en una encuesta, con tres escalas de satisfacción según se muestra en el Anexo 2.

### **3.8 Métodos Estadísticos**

El análisis estadístico está dado por los datos obtenidos del producto final (yogurt).

Se realizó el análisis estadístico sobre la encuesta realizada a un número de 50 personas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### ■ CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Se realizaron 8 pruebas con solventes de los cuales dos realizaron la separación de componentes de la mejor manera, que fueron los sistemas BAW (n-butanol/ácido acético glacial /agua) en la primera etapa 4:1:5 y en la segunda 4:1:1.

Muestra A: extracto.

Patrones: Rutina y Quercetina.

Teniendo esto, se pudieron observar los resultados de los Rf obtenidos (Figura 14), según la fórmula:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el sustrato}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

Siendo 7.5 cm la distancia recorrida por el disolvente.



**Figura 14. Análisis de Cromatografía de Capa Fina**

➤ **Sistema BAW 4:1:5**

En este sistema se pudieron observar 7 manchas visibles

**CUADRO 7. Resultados Después De Cromatografía**

MUESTRA	Rf
A	0.13; 0.2; 0.27; 0.38; 0.43; 0.83; 0.91
Rutina	0.43
Quercetina	0.97

➤ **Sistema BAW 4:1:1**

En este sistema se pudieron observar 6 manchas visibles

**CUADRO N°08**

**RESULTADOS DESPUÉS DE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA**

<b>MUESTRA</b>	<b>Rf</b>
<b>A</b>	0.07; 0.11; 0.27; 0.48; 0.61; 0.97
<b>Rutina</b>	0.61
<b>Quercetina</b>	0.97

Observando los cuadros 7 y 8 se demostró que la muestra contenía flavonoides. Puesto que en el cuadro 7 la Rutina tuvo un Rf de 0.43 al igual que en la muestra y en el cuadro 8 la Rutina y el extracto con 0.61 así como la Quercetina de 0.97 como en la muestra en los diferentes sistemas BAW. En el cuadro 7 se observó el Rf 0.38 que pertenece a la antocianina principal de la cáscara de berenjena *Solanum melongena* que es la cianidina – 3 – glucósido. (Lock Sing, 1997)

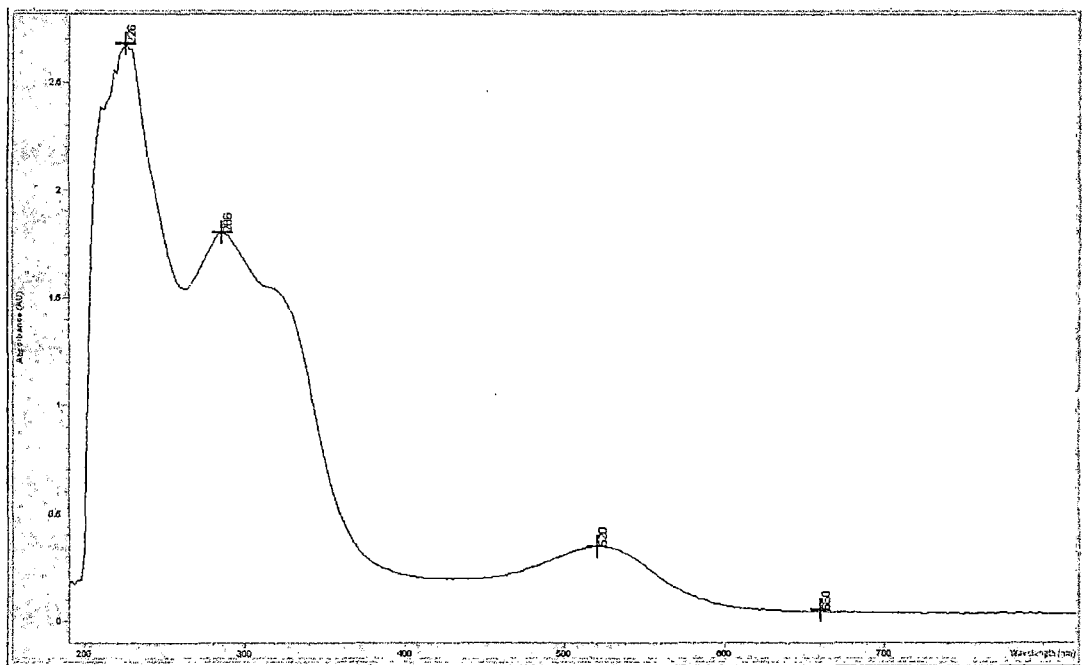
**❏ DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES**

Se utilizó dos sistemas tampón, de modo que se adicionó al concentrado de colorante 100 ml de buffer pH 1 de KCl 0.2 N, se dejó reposar por un par de minutos y se hizo un barrido espectroscópico en un Espectrofotómetro

SPECTRONIC GENESYS 5. Así mismo, se realizó este procedimiento para la muestra con el buffer de pH 4.5 de Acetato de Sodio 1 M.

Espectros de absorción:

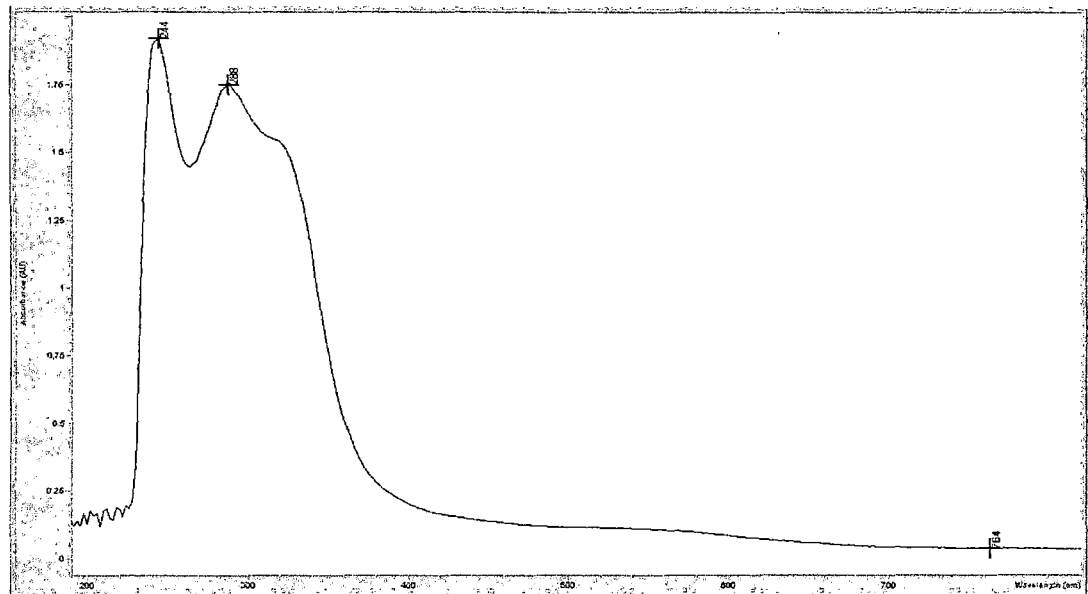
#### ANTOCIANINAS pH 1



#	Name	Peaks(nm)	Abs(AU)
1	Berengena	226.0	2.67870
1	Berengena	286.0	1.80180
1	Berengena	520.0	0.34778
1	Berengena	660.0	5.0385E-2



## ANTOCIANINAS pH 4.5



#	Nombre	Peaks(nm)	Abs(AU)
1	Berengena	244.0	1.92060
1	Berengena	288.0	1.75000
1	Berengena	764.0	3.7247E-2

Luego se tomó el valor de  $A_{\lambda_{\text{vismax}}}$  para la muestra a los dos pH's y el valor de  $A_{\lambda_{700\text{nm}}}$  también. Para los cálculos se tomó en consideración que la antocianina mayoritaria es cianidina-3-glucósido (Van Buren, 1970), cuya  $\epsilon$  es de  $29600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , de peso molecular  $449.02 \text{ gr / mol}$ .

Realizando el cálculo con la fórmula de la concentración de antocianina

$$\text{Concentración (mg/L)} = (A * \text{PM} * \text{FD} * 1000) / (\epsilon * 1)$$

Dando como resultado  $73.89 \text{ mg/l}$  de antocianinas totales en el extracto de colorante (14.5 ml).

## ■ RESULTADOS ANÁLISIS SENSORIAL

### I. Información General del Usuario:

#### 1. Sexo:

**Tabla 1. Sexo de los Encuestados**

SEXO	NÚMERO	PORCENTAJE %
Masculino	28	56
Femenino	32	64
TOTAL	50	100

Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014

### II. Evaluación de sabor del yogurt con colorante a base de cáscara de berenjena:

#### 2.1 Yogurt con 0 g

**Tabla 2. Evaluación de sabor del yogurt con colorante de cáscara de Berenjena en los Encuestados Dosis 2.1**

N° DE ENCUESTA	AGRADABLE	NI AGRADABLE NI DESAGRADABLE	DESAGRADABLE
1		X	
2		X	
3		X	
4			X
5		X	
6		X	
7		X	
8		X	
9			X
10			X
11		X	
12		X	
13		X	
14		X	
15			X
16		X	
17			X
18		X	
19			X
20			X
21			X
22			X

23			X
24		X	
25		X	
26			X
27		X	
28		X	
29	X		
30		X	
31		X	
32		X	
33		X	
34			X
35		X	
36		X	
37			X
38		X	
39		X	
40		X	
41	X		
42		X	
43		X	
44			X
45		X	
46		X	
47			X
48			X
49		X	
50		X	
TOTAL	2	32	16

Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014

## 2.2 Yogurt con 0.02 g

**Tabla 3. Evaluación de sabor al yogurt con colorante de cáscara de Berenjena en los Encuestados Dosis 2.2**

N° DE ENCUESTA	AGRADABLE	NI AGRADABLE NI DESAGRADABLE	DESAGRADABLE
1			X
2			X
3			X
4		X	
5		X	
6		X	
7		X	
8		X	

9		X	
10		X	
11		X	
12		X	
13		X	
14		X	
15		X	
16		X	
17		X	
18		X	
19		X	
20		X	
21		X	
22		X	
23			X
24		X	
25		X	
26		X	
27		X	
28		X	
29			X
30		X	
31		X	
32		X	
33		X	
34		X	
35		X	
36			X
37		X	
38			X
39		X	
40		X	
41		X	
42		X	
43		X	
44		X	
45		X	
46		X	
47		X	
48		X	
49		X	
50		X	
TOTAL	0	43	7

Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014

### 2.3 Yogurt con 0.03 g

**Tabla 4. Evaluación de sabor al yogurt con colorante de cáscara de Berenjena en los Encuestados Dosis 2.3**

Nº DE ENCUESTA	AGRADABLE	NI AGRADABLE NI DESAGRADABLE	DESAGRADABLE
1	x		
2	x		
3	x		
4	x		
5	x		
6		x	
7	x		
8	x		
9	x		
10	x		
11		x	
12		x	
13		x	
14	x		
15	x		
16	x		
17	x		
18	x		
19	x		
20	x		
21	x		
22		x	
23		x	
24	x		
25	x		
26	x		
27	x		
28	x		
29	x		
30		x	
31	x		
32	x		
33	x		
34	x		
35	x		
36	x		
37	x		
38	x		
39	x		
40	x		
41	x		
42	x		
43	x		

44	x		
45	x		
46	x		
47	x		
48	x		
49	x		
50	x		
TOTAL	43	7	0

Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014

#### 2.4 Yogurt con 0.04 g

**Tabla 5. Evaluación de sabor al yogurt con colorante de cáscara de Berenjena en los Encuestados Dosis 2.4**

Nº DE ENCUESTA	AGRADABLE	NI AGRADABLE NI DESAGRADABLE	DESAGRADABLE
1		x	
2		x	
3		x	
4		x	
5		x	
6		x	
7		x	
8		x	
9		x	
10		x	
11	x		
12		x	
13		x	
14		x	
15		x	
16			x
17			x
18		x	
19		x	
20		x	
21			x
22		x	
23			x
24			x
25			x
26			x
27			x
28			x
29		x	
30		x	

31		x	
32		x	
33			x
34		x	
35		x	
36			x
37			x
38			x
39			x
40			x
41			x
42			x
43		x	
44			x
45		x	
46			x
47			x
48			x
49		x	
50			x
TOTAL	1	27	22

Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014

## 2.5 Yogurt con 0.05 g

**Tabla 6. Evaluación de sabor al yogurt con colorante de cáscara de Berenjena en los Encuestados Dosis 2.5**

N° DE ENCUESTA	AGRADABLE	NI AGRADABLE NI DESAGRADABLE	DESAGRADABLE
1			x
2			x
3			x
4			x
5			x
6			x
7			x
8			x
9			x
10			x
11			x
12			x
13		x	
14			x
15			x
16			x

17			X
18			X
19			X
20		X	
21			X
22			X
23			X
24			X
25			X
26			X
27			X
28			X
29			X
30			X
31			X
32		X	
33			X
34			X
35			X
36			X
37			X
38			X
39		X	
40		X	
41			X
42			X
43			X
44			X
45			X
46			X
47			X
48			X
49			X
50			X
TOTAL	0	5	45

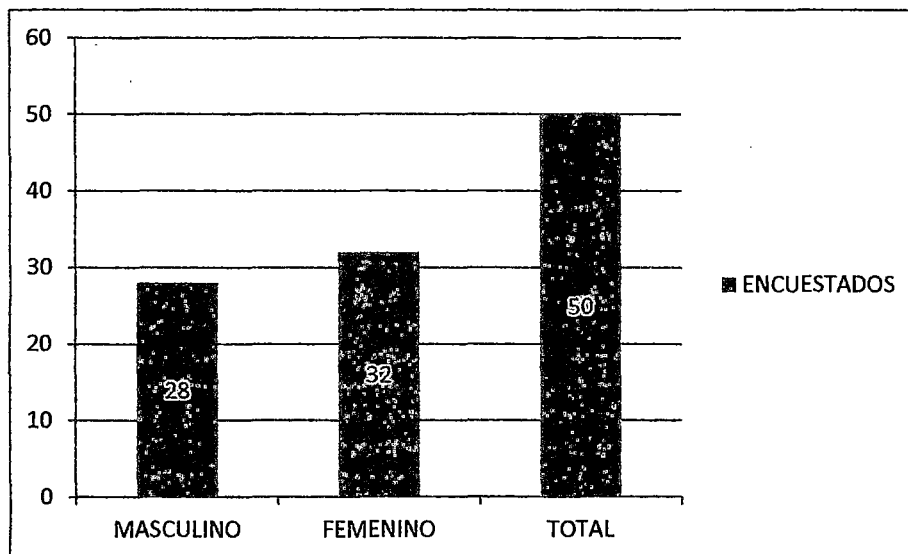
Fuente: Encuesta de consumidores  
Fecha: 23 de junio de 2014



## ■ RESULTADOS ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ENCUESTA

### I. Información General del Usuario:

#### 1. Sexo:



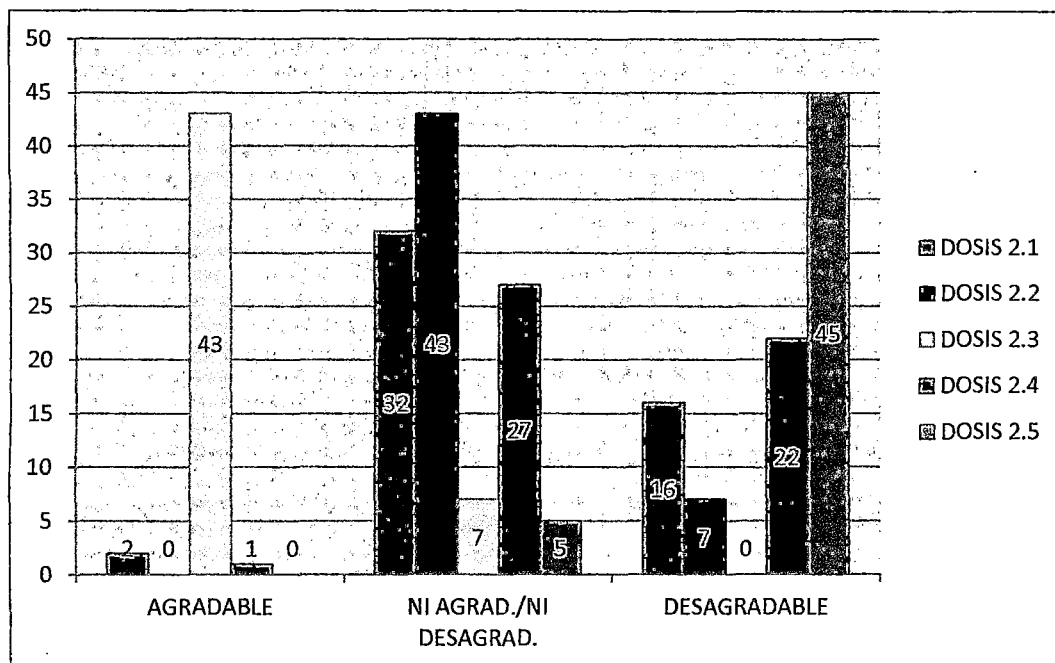
**Gráfico 1. Número de personas encuestadas**

Fuente: La autora

2. Lugar de Residencia: Todas las encuestas se realizaron en la ciudad de Lambayeque.

3. Fecha : 23 / 06 / 14

II. Evaluación de sabor al yogurt con colorante a base de cáscara de berenjena:



**Gráfico 2. Evaluación del yogurt con colorante de cáscara de berenjena**

Fuente: La autora

## CONCLUSIONES

1. Se dio el valor agregado a la cáscara de la berenjena *Solanum melongena*, considerada como residuo orgánico.
2. Se obtuvo un colorante en forma semi - líquida a partir de las cáscaras de la Berenjena *Solanum melongena*, mediante un proceso de maceración y secado por evaporación.
3. Se aplicó el colorante obtenido a un producto láctico, en este caso el yogurt, el cual no varió su consistencia.
4. Cincuenta personas calificadoras que intervinieron en el método sensorial, determinaron una buena aceptación del yogurt, prefiriendo la muestra que tenía 0.03 gramos del colorante natural.

## **RECOMENDACIONES**

- 1. Mantener el yogurt refrigerado por posible oxidación del colorante a temperatura ambiente.**
- 2. Fomentar los cultivos de berenjena en el país, con el fin de obtener suficiente materia prima para realizar alianzas estratégicas de comercialización con empresas de productos alimentarios.**
- 3. Incentivar a realizar estudios en lo que respecta el uso de otros colorantes a base de flavonoides, para así ampliar la variedad dentro del mercado de productos naturales.**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABANTO, C. (2008). Los Colorantes. Disponible en: <http://alimentos.blogia.com/temas/24-colorantes.php>, accedido Mayo 2013.
2. ABEYSEKERE, M., SAMPATHU, S.R. AND SHANKARANARAYANA, M.L. (1990) *Studies on Different Methods of Extraction of Betalaines from Red Beet (Beta vulgaris)*. Journal of Food Science and Technology, 27 (5). USA. Páginas 336-339.
3. AGUILERA, M. ; Reza,M; Chew,R.; y Meza, J. (2011) .Propiedades Funcionales De Las Antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Volumen XIII, Número 2* - Universidad de Sonora – México.
4. ASTRID, G (2008). *Las Antocianinas como Colorantes Naturales y Compuestos Bioactivos: Revisión*, disponible en: <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/v13n3/v13n3a2.pdf>, accedido Abril 2013.
5. BADUI, S. (2006). Química de los Alimentos, Cuarta Edición. Longman, México. Páginas 68-180.
6. BARROS, C., *Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso*. Primera Edición., Madrid – España: Editorial Visión Libros. Páginas 59, 473.
7. BIRKS S. (1999). The Potential of Carrots. Food-Manuf. USA. Páginas 22-23.
8. BREAKEY J, REILLY C, CONNELL H. (2002). *The Role of Food Additives and Chemicals in Behavioral, Learning, Activity, and Sleep Problems in Children*. In: Branen AL, Davidson PM, Salminen S, Thorngate III JH, editors. Food additives. New York - USA. Páginas 87-88.
9. CANO, A (2011). *Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol Solanum betaceum cav., mortiño Vaccinium myrtillus l. y mora de castilla Rubus glaucus como alternativa colorante natural para alimentos*, disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA%20I-004583.pdf>, accedido Abril 2013.
10. DURAN, M., CONTRERAS, N. & VALENCIA, H. (2007). *Obtención de la Oleorresina de la Berenjena (Solanum Melongena l.) y Su Posible Uso Industrial*. Scientia et Technica Año XIII, No 33, Mayo de 2007. UTP. ISSN 0122-1701.
11. ERSUS S, YURDAGEL U. (2007). Microencapsulation of Anthocyanin Pigments of Black Carrot (Daucuscarota L.) by Spray Drier. J Food Eng. USA. Páginas 805-812.

12. FENNEMA, OWEN R. (2000). *Química de los alimentos*. Segunda edición. Editorial Acribia, Zaragoza - España. Páginas 223 – 227.
13. GOODMAN, L. P. & MARKAKIS. P. (1965). *Journal of Food Science*. Vol 30. Editado por Charles Brennan. USA. Páginas 171—182.
14. GUARNIZO A., MARTÍNEZ P. *et al.* (2009). *Experimentos de Química Orgánica*. Primera Edición. Ediciones Elizcom, Armenia, Quindío – Colombia. Páginas 67 – 70.
15. GUISTI, M., RODRÍGUEZ – SAONA, M., BAGGETT, J. R., REED, L. G., DURST, R. W. & WROLSTAD, R. E. (1998). Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. *J. Fd. Science* 63, USA. Páginas 214 – 224.
16. HALLAGAN JB. (1991). *The Use of Certified Food Color Additives in the United States*. Cereal Food World, USA. Páginas 945-948.
17. HUCK P, WILKES MC. (1996). *Beverage Natural Colors: Chemistry and Application*. In: International Congress and Symposium on Natural Colorants, Puerto de Acapulco. Abstracts. México: Asociación Mexicana de Especialistas en Colorantes y Pigmentos Naturales, A.C; Página 11.
18. HURTADO, A. (2009). *La Berenjena y Sus Propiedades*. Disponible en: <http://laiveesvida.com/web/la-berenjena-y-sus-propiedades/>, accedido, Abril 2013.
19. HUTCHINGS, JOHN B. (1999). *Food Color and Appearance*. Primera Edición. Editorial Springer, USA. Páginas 220 – 232.
20. KALLIO, H., PALLASAHO, S., CARPA, J. Y LINKO, R. R. (1986). Comparison of the half-lives of the anthocyanins in the juice of crowberry, *Empetrum nigrum*. *J. Fd. Science* 51, USA. Páginas 408 – 410, 430.
21. LAURO GJ. (1991). *A primer on Natural Colors*. J Am Assoc Cer Chem, USA. Páginas 949-953.
22. LOCK SING DE UGAZ (1997). *Colorantes Naturales*. Primera Edición. Lima – Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Páginas 95 – 116.
23. LOCK SING DE UGAZ (1994). *Investigación Fitoquímica*. Segunda Edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima - Perú. Páginas 114 – 135.
24. LUCKTON, A., CHICHESTER, C. O. & MACKINNERY. G. (1956). *The breakdown of strawberry anthocyanin pigment*. *Food Technology* 10, USA. Páginas 207 – 225.
25. MARCANO D. & HASEGAWA M. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Segunda Edición. Editorial Torino – Venezuela. Páginas 137 – 171.

26. MARKAKIS, P. (1982). *Anthocyanins as Foods Colors*. Academic Press, N.Y USA. Páginas 16 – 22.
27. McCANN D, BARRETT A, COOPER A, CRUMPLER D, DALEN L, GRIMSHAW K, et al. (2007). Food Additives and Hyperactive Behaviour in 3-Year-old and 8/9-Year-old Children in the Community: A Randomised, Double-Blinded, Placebo-controlled Trial. *Lancet*. Páginas 1560-1567.
28. MONPOL, (2010). *Alimentos por Colores*, disponible en: <http://www.natulinea.com/dietas/alimentos-por-colores/>, accedido Abril 2013.
29. OLAYA CM, CASTAÑO MP, GARZÓN GA. (2008). Effect of Temperature and Water Activity on the Stability of Microencapsulated Anthocyanins Extracted From Andes Berry (*Rubus glaucus*) and Tamarillo (*Solanum betaceum*). USA. Páginas 27 – 38.
30. OTTERSÄATER G. (1999). *Coloring of Food, Drugs and Cosmetics*. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc., USA. Páginas 12 – 17.
31. PROCIANDINO (1995). *Experiencias en el Cultivo del Maíz en el Área Andina*. Primera Edición. Programa Cooperativo de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria para la Subregión Andina, Quito – Ecuador. Páginas 30 – 31.
32. QUINTERO, C. (2004). *Efecto de la copigmentación sobre el color y estabilidad del pigmento en un sistema modelo (bebida), usando antocianina de rábano*. Tesis Licenciatura. Quimicofarmacobiología. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla.
33. RAMÍREZ, M., et al. (2006). Obtención de un colorante natural alimentario a partir de la mora de castilla *Rubus glaucus bent*. *Ciencia en desarrollo*. Vol. 2. No. 2. Bogotá – Colombia. Páginas 115 – 130.
34. SIMPSON, K. L., LEE, T. C. et al. (1976). *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Vol. 2. Academic Press, Mew York. Páginas 780 – 842.
35. TAIZ, L., ZEIGER, E., (2006). *Fisiología Vegetal*. Tercera Edición. Publicaciones de la Universidad Jaume, Castellón - España. Páginas 551 – 554.
36. VAN BUREN, J. (1970). *Fruit phenolics*. In *The anthocyanins of apples and pears*. The occurrence of acyl derivatives. USA. Páginas 509 – 513.
37. VERA, L., JARDÓN, R. & CORONA, K. *Colorantes sintéticos*, disponible en: <http://www.slideshare.net/aulger/colores-aprobados-por-la-fda-presentation>, accedido Abril 2013.
38. YANCHAPANTA, D (2011). *Obtención de un colorante natural la betalaina a partir de la remolacha (beta vulgaris) para su aplicación en alimentos y bebidas, sin que sus propiedades organolépticas (sabor y olor) afecten su utilidad.*, disponible en: <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/handle/123456789/1764/SBQ17%20Ref.3401.pdf?sequence=1>, accedido Abril 2013.

39. WALLACE TC, GIUSTI MM. (2008). Determination of Color, Pigment, and Phenolic Stability in Yogurt Systems Colored with Nonacylated Anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as Compared to Other Natural/Synthetic Colorants. J Food Sci. USA. Páginas C1-C7.
40. WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE (2014). *Cromatografía en capa fina*, disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa\\_en\\_capa\\_fina](http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_en_capa_fina), accedido Enero 2014.
41. WIKIPEDIA LA ENCICLOPEDIA LIBRE (2011). *Solanum melongena*, disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Solanum\\_melongena](http://es.wikipedia.org/wiki/Solanum_melongena), accedido Abril 2013.
42. WROLSTAD RE. (2000). *Anthocyanins*. In: Lauro GJ, Francis FJ, editors. Natural Food Colorants. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc., USA. Páginas 237-252.



## ANEXOS

### ANEXO 1

#### PATRONES EMPLEADOS EN ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

##### RUTINA

Rutina, también llamada **rutósido**, **quercetin-3-rutinósido** y **soforina**, es un glucósido flavonoide encontrado en algunas plantas. Se ha encontrado este compuesto en los pecíolos de las especies de los géneros *Rheum* y *Asparagus*, y también en algunas frutas, en especial cítricos. Su nombre proviene de *Ruta graveolens*, una planta que también contiene rutina. A veces se la refiere como vitamina P, pero no es estrictamente una vitamina.

##### Estructura Química

La rutina es el glucósido entre el flavonol quercetina y el disacárido rutinosa. La rutina se forma creando enlace entre el disacárido y el grupo hidroxilo de la quercetina (Figura 15).

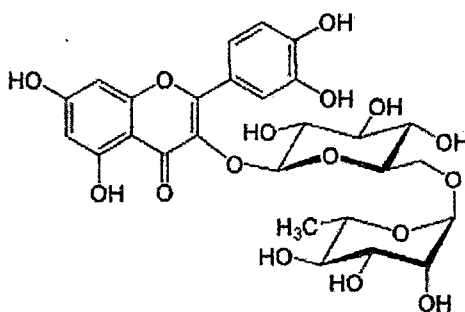


Figura 15. Estructura de la Rutina

**Nombre (IUPAC) sistemático:**

2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3- $\{[(2S,3R,4S,5S,6R)$   
-3,4,5-trihidroxi-6- $\{[(2R,3R,4R,5R,6S)$ -3,4,5-trihidroxi  
-6-metiloxan-2-il]oxi}metil)oxan-2-il]oxi}-4*H*-cromen-4-ona

**Fórmula molecular:** C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>

**PROPIEDADES FÍSICAS**

**Estado de agregación:** sólido

**Masa molar:** 610.517 g/mol

**Punto de fusión:** 515 K (242 °C)

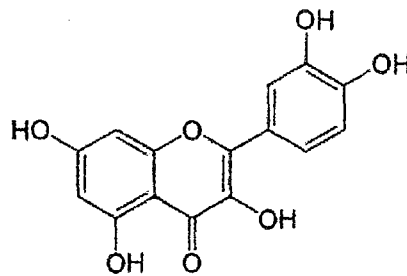
Valores en el SI y en condiciones estándar (25 °C y 1 atm), salvo que se indique lo contrario.

**Rol como ligando**

Puede combinarse con cationes, proveyendo nutrientes a las células de las plantas. En humanos, liga el ion Fe<sup>2+</sup>, previniendo su enlace al peróxido de hidrógeno, que de otra manera formaría un altamente reactivo radical libre que podría dañar las células. Es también un antioxidante, y un potente inhibidor VEGF(inhibidor de la angiogénesis), y también cumple un rol inhibiendo algunos cánceres.

## QUERCETINA

La **quercetina** (fórmula molecular:  $C_{15}H_{10}O_7$ ) es un flavonol (Figura 16), que se encuentra presente generalmente como O - glicósidos y raramente como C - glicósidos en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras en especial en la cebolla. Es el flavonoide más abundante y el más habitual en la dieta humana, destacando por su elevada actividad antioxidante. A partir de él se obtienen otros flavonoides, como la naringenina o la rutina.



**Figura 16.** Estructura química de la Quercetina

Muchas plantas, ya sean consideradas medicinales o no, deben gran parte de sus beneficios a los altos niveles de quercetina que presentan. Por ejemplo, algunas clases de cebolla (como la roja) contienen tanta quercetina que el compuesto representa el 10% de su peso seco, siendo de este hecho de donde derivan sus múltiples propiedades terapéuticas. Otros alimentos con niveles elevados de quercetina son las manzanas, las uvas, el brócoli o el té.

Sus aplicaciones terapéuticas son diversas, siendo especialmente efectivo en el tratamiento y prevención de las enfermedades cerebrovasculares, la obesidad o el cáncer. Debido a su actividad antihistamínica hace que sea útil para la prevención de ataques alérgicos y de asma.

Fue descubierta por J. Rigaud en el año 1854.

Un estudio realizado *in vitro* mostró que la quercetina y el resveratrol combinados inhiben la producción de células adiposas.

### **Metabolismo**

En las plantas, la quercetina se encuentra unida a azúcares, formando glucósidos hidrofílicos muy difíciles de absorber. Éstos últimos son hidrolizados en el intestino delgado. Así, tras la hidrólisis, la quercetina aglicada es absorbida eficientemente.

## ANEXO 2

**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**

### ENCUESTA DE ACEPTACIÓN DE UN PRODUCTO QUE CONTIENE COLORANTE NATURAL

Encuesta N° .....

#### OBJETIVO

La encuesta busca identificar la concentración de dosis de colorante a base de cáscara de berenjena a aplicar en el yogurt (muestra: 5 vasitos). Identificar los sabores de los cuales Ud. calificará de acuerdo a la aceptación de su paladar (los vasitos contiene muestras en gramos del extracto de colorante de berenjena).

#### INSTRUCCIONES:

La encuesta tiene carácter anónimo, sírvase a contestar la respuesta que considere adecuada y responda con toda la franqueza necesaria.

#### I. Información General del Usuario:

1. Sexo:                      Hombre   ☐                      Mujer   ☐
2. Lugar de Residencia.....
3. Fecha :        /    /

#### II. Evaluación de sabor al yogurt con colorante a base de cáscara de berenjena:

- a. Yogurt con 0 g
- |                                  |                          |
|----------------------------------|--------------------------|
| i. Agradable                     | <input type="checkbox"/> |
| ii. Ni agradable ni desagradable | <input type="checkbox"/> |
| iii. Desagradable                | <input type="checkbox"/> |
- b. Yogurt con 0.02 g
- |                                  |                          |
|----------------------------------|--------------------------|
| i. Agradable                     | <input type="checkbox"/> |
| ii. Ni agradable ni desagradable | <input type="checkbox"/> |
| iii. Desagradable                | <input type="checkbox"/> |

- c. Yogurt con 0.03 g
- i. Agradable ☐
  - ii. Ni agradable ni desagradable ☐
  - iii. Desagradable ☐
- d. Yogurt con 0.04 g
- i. Agradable ☐
  - ii. Ni agradable ni desagradable ☐
  - iii. Desagradable ☐
- e. Yogurt con 0.05 g
- i. Agradable ☐
  - ii. Ni agradable ni desagradable ☐
  - iii. Desagradable ☐